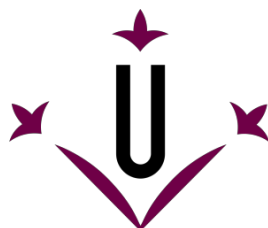




TRABAJO FINAL DE GRADO

Estudio comparativo de la vida útil entre canales de
vacuno sacrificadas en explotación y sacrificadas en
matadero



Universitat de Lleida

Xavier Oliver Bach

Grado en Veterinaria

Universidad de Lleida, junio 2019

Tutor/a: Francisco Molino Gahete

Cotutor/a: M^a Teresa Milà Beà

Índice

Abreviaturas	3
Lista de figuras	3
Resumen.....	4
1. Introducción	5
2. Hipótesis del estudio	7
3. Objetivos	7
3.1. Objetivo principal	7
3.2. Objetivos secundarios	7
4. Bienestar animal: marco legal y social	8
5. Sacrificio	9
5.1. En explotación	9
5.1.1. Transporte	11
5.2. En matadero	12
5.2.1. Estabulación	13
5.2.2. Faenado	13
6. Material y métodos	15
6.1. Diseño experimental	15
6.2. Metodología del análisis microbiológico.....	15
6.2.1. Obtención de muestras	15
6.2.2. Análisis de laboratorio.....	16
6.2.3. Recogida de datos	18
6.3. Estadística.....	19
6.3.1. Estudio de normalidad	19
6.3.2. Análisis univariado	19
6.3.3. Análisis bivariado.....	19
6.4. Variables a estudiar	19
6.4.1. Variables independientes.....	19
6.4.2. Variables dependientes.....	20
6.5. Cronograma.....	20
7. Resultados y discusión	21
7.1. Análisis univariante	21
7.2. Análisis bivariante	21

8. Conclusiones.....	27
Agradecimientos	27
Bibliografía	28
Anexos.....	29
Anexo 1: Hoja de Excel para la recogida de datos	29
Anexo 2: Respuesta de la Tª media en función del tipo de sacrificio	30
Anexo 3: Respuesta del pH medio en función del tipo de sacrificio	31
Anexo 4: Respuesta del crecimiento microbiano de MAM a días 0, 4, 8 y 15 en función del tipo de sacrificio	32
Anexo 5: Respuesta del crecimiento microbiano de PSI a días 0, 4, 8 y 15 en función del tipo de sacrificio	33

Abreviaturas

DFD: seca, firme y oscura

EEB: encefalopatía espongiforme bovina

GC: grupo sacrificio en matadero

GU: grupo sacrificio en explotación

LAB: bacterias del ácido láctico

MAM: microorganismos aerobios mesófilos

MAP: almacenaje en atmósfera modificada

MER: material específico de riesgo

OFES: sacrificio de urgencia en explotación

PSE: pálida, suave y exudativa

PSI: psicrótrofos

ufc: unidades formadoras de colonia

Lista de figuras

Figura 1.	Puntos de referencia anatómica para la aplicación del aturdimiento.	11
Figura 2.	Sección de las muestras para formar alícuotas ≥ 10 g de carne.	16
Figura 3.	Inoculación y siembra de las muestras en placas.	17
Figura 4.	Recuento de colonias en placas de psicrótrofos tras la incubación.	18
Figura 5.	Gráfica de crecimiento microbiano de MAM a días 0, 4, 8 y 15.	23
Figura 6.	Gráfica ComBase de crecimiento microbiano de MAM.	24
Figura 7.	Gráfica de crecimiento microbiano de PSI a días 0, 4, 8 y 15.	25
Figura 8.	Gráfica ComBase de crecimiento microbiano de PSI.	26

Resumen

Este estudio discute si la aplicación de un tipo de sacrificio u otro afecta la extensión de la vida útil de la canal. Normalmente cuando un animal ha acabado su vida productiva es trasladado a un matadero y sacrificado en el mismo para poder obtener las partes cárnicas del animal. No obstante, cuando un individuo es incapaz de transportarse para ser trasladado a un centro de matanza, normalmente por problemas locomotores, o bien, supone un riesgo para la vida del transportista, entonces se le aplica un sacrificio en la misma explotación para acabar con su sufrimiento (Koralesky y Fraser, 2018). Entonces es de suponer que este sacrificio pueda provocar un empeoramiento de la calidad de la canal, ya que hay que tener en cuenta que la higiene en el sacrificio y el aplazamiento de la evisceración pueden influenciar en el contenido microbiológico de la carne y por consiguiente acortar la vida útil de la misma.

La vida útil de un producto alimenticio está ligada a la concentración microbiológica del mismo, pues según el reglamento (UE) 853/2004 a partir de 6,6 unidades logarítmicas de ufc/g aquel alimento puede comprometer la salud humana.

Para poder llevar a cabo el estudio se partirá de 15 terneros sacrificados en el matadero y 24 sacrificados en la explotación, de los cuales se tomarán muestras de músculo procedente de los pilares del diafragma antes de entrar en la cámara de refrigeración, así como valores de pH y temperatura, tiempo de transporte y tiempo de faenado para poder establecer una relación entre ellos y el tipo de sacrificio. Las muestras almacenadas en refrigeración serán trasladadas y analizadas posteriormente en un laboratorio donde se realizará el recuento microbiano de la carne y de esta forma poder concluir, mediante un apoyo estadístico, si el sacrificio puede afectar a la vida útil de la canal.

Los resultados obtenidos han mostrado una ausencia de diferencias entre la T^a de la canal y el tipo de sacrificio (p -valor $\geq 0,05$). Sin embargo, podemos afirmar que el sacrificio en explotación puede afectar al pH del músculo tras el faenado, ya que con un p -valor = 0,001 la probabilidad de cometer un error al concluir diferencias entre ambas variables es mínima. Además, en base a los resultados obtenidos sobre el crecimiento bacteriano, podemos descartar que el tipo de sacrificio pueda influir sobre el aumento de la población de mesófilos y psicrótrofos en las muestras de carne recogidas a diferentes tiempos de análisis (0, 4, 8 y 15 días).

1. Introducción

Cuando la vida productiva de un animal ha terminado su destino es el matadero, lugar donde se va aprovechar al máximo las partes cárnicas del individuo. Para poder llevar a cabo la obtención de las canales se realiza el sacrificio, paso precedido por el aturdimiento (etapa obligatoria según la legislación vigente), el cual se puede clasificar en dos tipos según el lugar de realización (sacrificio en explotación o en matadero). El sacrificio en matadero es el proceso que se basa en el sangrado del animal vivo una vez llega al establecimiento. No obstante, cuando los animales son incapaces de moverse por sí solos sin dolor o desplazarse sin ayuda, si tienen una herida grave abierta, tienen un prolapso (rectal, uterino o vaginal), o bien, tienen una debilidad fisiológica se procede al sacrificio *in situ* (con la supervisión de un veterinario) para evitar su sufrimiento y facilitar el desplazamiento de aquel animal al matadero (Reglamento UE 1/2005).

De acuerdo algunos estudios realizados por Sutherland et al. (2016) sobre calidad de la canal existen varios factores estresantes que pueden influir de forma negativa sobre algunos parámetros de la carne, entre ellos tenemos la privación de agua o comida, transporte, manipulación de los trabajadores, etc. Durante el transporte se dan una serie de factores, tales como la alta densidad o el calor, que aumentan los efectos nocivos del estrés, así como la carga y descarga del camión que está más vinculada con la manipulación brusca de los empleados, contribuyendo al desarrollo de carne de mala calidad. Esta bajada de calidad está directamente relacionada con el agotamiento de las reservas de glucógeno muscular, resultando en un incremento del pH de la carne y una reducción de los niveles de glucosa, dañando parámetros de calidad de la canal tales como terneza, capacidad de retención de agua, sabor, color de la carne y vida útil (Sutherland et al., 2016). Las carnes DFD (secas, firmes y oscuras) y PSE (pálidas, blandas y exudativas) son una consecuencia de la disminución del pH de la carne, hecho del cual está directamente relacionado con los niveles iniciales de glucógeno en el músculo en el momento del sacrificio y del nivel de estrés inducido durante el transporte y los procedimientos pre-sacrificio. Los factores más importantes que causan DFD y PSE ocurren justo después de que el animal abandone la granja (Mareko, 2005).

Según un estudio realizado por Mareko (2005) los principales parámetros de la calidad de la carne que son afectados por los procedimientos del manejo del animal son: color, pH, textura y palatabilidad del magro. Además, no hay que olvidar la vida útil, que también está afectada negativamente por el incorrecto manejo.

La carne fresca es un producto sumamente perecedero, llegando a permanecer estable durante 4 días, bajo condiciones de refrigeración (González et al., 2014). Esto se debe a su composición química que favorece el crecimiento microbiano, provocando niveles microbianos inaceptables que contribuyen significativamente al deterioro de la carne. Teóricamente tras el faenado la contaminación inicial debe ser ausente, pero siempre hay una carga inicial de 2 a 3 unidades logarítmicas de ufc/g, por lo que se han establecido unos niveles que no ponen en riesgo la salud. La carga inicial de aerobios mesófilos se considera aceptable cuando oscila entre 3,5 y 5 unidades logarítmicas de ufc/cm², de *Enterobacteriaceae* spp.. debe comprender valores entre 1,5 y 2,5 unidades logarítmicas de ufc/cm² y, en el caso de *Salmonella* spp.. debe

estar ausente en la muestra analizada (Reglamento UE 2073/2005). Además de la carga microbiana, también hay otros parámetros que intervienen en el deterioro como el estado fisiológico del animal al sacrificio, la propagación de la contaminación dentro del matadero y durante el faenado, condiciones de almacenaje, etc.

Doulgeraki et al (2012) estableció que los géneros que se encuentran en la carne recién faenada frecuentemente son *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Brochothrix* spp., *Flavobacterium* spp., *Psychrobacter* spp., *Moraxella* spp., *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., bacterias ácido láctico (LAB) y diferentes géneros de la familia *Enterobacteriaceae*. Miembros del grupo de las *Pseudomonas* tales como *fluorescens*, *fragi*, *lundensis* y *putida* han sido frecuentemente aisladas de la carne deteriorada por la presencia de oxígeno e incluso almacenadas a temperaturas bajas.

Shewanella spp., un género muy relacionado con *Pseudomonas* spp., también ha sido encontrado en una gran variedad de productos cárnicos y cuando se combina con la *Pseudomonas* spp. produce un efecto sinérgico significativo sobre el deterioro de alimentos de origen animal. La especie *Pseudomonas putrefaciens* es caracterizada por su capacidad de producir compuestos malolientes, como el sulfito de hidrógeno, que combinados con el pigmento muscular le proporcionan una coloración verdosa a la carne, contribuyendo de esta forma al desarrollo de olores desagradables y descomposición. Además, esta cepa se ha considerado la causa primaria de deterioro de carne refrigerada almacenada al vacío y carne con pH básico almacenada al vacío (Doulgeraki et al, 2012).

Las bacterias ácido lácticas (LABs) son importantes competidores con otros grupos de microorganismos relacionados con el deterioro bajo condiciones de MAP (almacenaje en atmósfera modificada) o vacío. Particularmente, *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp. y *Leuconostoc* spp. se asocian a la degradación de la carne cruda refrigerada, además ellas también pueden ser cepas dominantes en un medio con bajas cantidades de oxígeno (Doulgeraki et al, 2012).

Existen estudios relacionados con la calidad de la carne y sobre la interacción del sacrificio con la presencia de microorganismos, pero no se ha encontrado información acerca de cómo las distintas formas de sacrificar puedan afectar a la caducidad de la carne de vacuno.

Teniendo en cuenta los factores anteriormente citados que intervienen en la calidad de la carne y los pocos o nulos estudios realizados en mataderos y explotaciones en Cataluña, es necesario realizar un estudio que permita discernir si el tipo de sacrificio influye en la vida útil de la canal.

2. Hipótesis del estudio

La hipótesis que nos planteamos es si las carnes procedentes de animales sacrificados en explotación tendrían una vida útil inferior a las de los sacrificados en matadero, ya que dadas las diferentes condiciones higiénicas de una granja comparadas con un establecimiento de sacrificio junto con el estrés generado por el medio que lo rodea, podría comprometer la vida útil de la carne proveniente de este tipo de sacrificio.

3. Objetivos

3.1. Objetivo principal

El objetivo de este estudio es observar si existen diferencias en la vida útil de la carne de vacuno dependiendo del tipo de sacrificio.

3.2. Objetivos secundarios

Los objetivos secundarios de este estudio son:

1. Determinar la vida útil de una canal sacrificada en explotación y de una sacrificada en matadero mediante la toma de muestras en matadero para determinar el crecimiento microbiano, pH y temperatura de las canales.
2. Elaborar un estudio de microbiología predictiva en condiciones similares a la toma de muestras y análisis del objetivo 1 y compararlo con modelos referenciados en la bibliografía.

4. Bienestar animal: marco legal y social

A nivel internacional existen tres reglamentos:

- Reglamento (UE) 1/2005, que regula la protección animal durante el transporte.
- Reglamento (UE) 853/2004, que establece normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.
- Reglamento (UE) 1099/2009, que regula la protección de los animales durante la matanza.

A nivel nacional los procedimientos de sacrificio de los animales están regulados por estos dos organismos:

- MAPAMA: Incluye, entre otros, los procedimientos que ha de seguir un veterinario para realizar un sacrificio en explotación. Después de haber comprobado que el animal no es apto para el transporte llevara a cabo la inspección ante-mortem del animal, para determinar su aptitud para el sacrificio en explotación. También proporciona procedimientos normalizados de trabajo para los operadores.
- AECOSAN: Incluye los procedimientos anteriormente citados, ya que MAPAMA y AECOSAN elaboran de forma conjunta los procedimientos establecidos.

Con la aprobación de los procedimientos procedentes de estos dos organismos, todos los poseedores de animales, es decir, tanto el titular de la explotación, el transportista y el cuidador durante el traslado de los animales, como el operador de matadero, disponen de los mismos criterios para la evaluación del estado de salud del animal y los procedimientos de actuación en cada caso.

El bienestar animal es un tema de interés cada vez con más auge, pues la población actual, además de querer consumir productos más sanos, también demanda la introducción de prácticas durante la vida productiva del animal que respete el bienestar animal. Según un estudio de IPSOS sobre consume de carne en España ha mostrado que, a pesar de que los hábitos alimenticios son en gran medida omnívoros, hay un crecimiento significativo en dietas exentas de carne en los últimos meses. Dicho esto, se ha visto que el 41% de la población española alberga hábitos vegetarianos o veganos, seguido de un 39% de flexitarianos (consumidores de carne o pescado de forma ocasional) y el 33% de pescetarianos. Mario Arqued asegura que los flexitarianos vienen motivados por un tema de salud, mientras que el grupo de los vegetarianos y veganos deben sus hábitos a una ideología basada en el bienestar animal (IPSOS, 2018).

5. Sacrificio

5.1. En explotación

En cuanto el animal entra en la zona de sacrificio, pasa por una manga donde se realiza el aturdimiento mecánico, que consiste en aplicar el instrumento sobre la parte frontal de la cabeza y perpendicular a la superficie ósea causando la destrucción inmediata del cráneo y del cerebro, dando lugar a un proceso irreversible. Los signos indicativos de un aturdimiento realizado de forma adecuada son los siguientes:

- Tonicidad o rigidez inmediata de los músculos y el resto del cuerpo tras la aplicación del golpe.
- Ausencia de la respiración rítmica normal.
- Abertura permanente de los párpados, con la órbita de frente mirando sin rotación.

Existen tres tipos de instrumentos distintos que se emplean en el aturdimiento mecánico, de los cuales son: balas, perno cautivo no penetrante y penetrante. No obstante, el más usado actualmente es el perno cautivo penetrante.

El perno cautivo penetrante es un sistema que se basa en el uso de una pistola de aire comprimido o de cartucho vacío, es decir, sin la presencia de un proyectil. El impacto en el cráneo resulta en un estado de inconsciencia del animal. A pesar de que la lesión cerebral ocasionada por la penetración puede provocar la muerte, se procederá en la mayor brevedad posible al sangrado para garantizar la expiración del animal. Se tendrá en cuenta que la velocidad y la longitud del perno dependerán de la especie y el tipo de animal, en el caso de pistolas de cartucho y de aire comprimido. Es recomendable disponer de más de una pistola para evitar el recalentamiento y, en cualquier caso, habrá una pistola de reserva por si el disparo no surte efecto. Debe asegurarse de que la cabeza del animal está al alcance del operario, además dispara el perno de modo que forme un ángulo recto con el cráneo. Para completar la operación, el operario procederá al descabello o sangrado para asegurarse de que el animal está muerto inmediatamente tras el acto.

Las ventajas de este método son:

- Reducción de la necesidad de desplazamiento de animales.
- Pérdida inmediata del conocimiento.

Como inconvenientes principales tenemos que:

- Las convulsiones consecutivas al aturdimiento pueden entorpecer el descabello o hacer que sea arriesgado.
- Dificultad de aplicación en animales de temperamento inquieto.
- El uso reiterado puede provocar un recalentamiento del instrumento.
- Puede comprometer la bioseguridad con la diseminación de los fluidos corporales.
- La destrucción del tejido cerebral puede impedir el diagnóstico de enfermedades.

Este método de matanza se basa en la sección de los principales vasos sanguíneos del cuello (arterias carótidas) o del tórax, dando como resultado una rápida reducción de la tensión sanguínea e isquemia cerebral y, finalmente, la muerte. Atendiendo a los principios de bienestar animal, aquellos individuos que se les haya aplicado un método de aturdimiento reversible en los sacrificios rituales como Kosher o Halal, es obligatorio realizar un sangrado a la mayor brevedad posible (OIE, 2019).

Una vez finalizado este proceso, se debe observar e inspeccionar que el animal no muestre reflejos del tronco cerebral (su ausencia determina la muerte), ya que pueden ocasionar convulsiones y permitir el paso de la sangre hacia su interior (neumonía por aspiración de sangre) (OIE, 2019).

Cuando en una explotación los animales se lesionan, el empresario es quién decide si se trata, transporta o se realiza el sacrificio de urgencia en granja (OFES = On Farm Emergency Slaughter) (Koralesky y Fraser, 2018).

Los procedimientos del OFES, en la cual inspección, aturdimiento y sangrado ocurren en la explotación antes de que el cadáver sea transportado a matadero, son permitidos en algunas jurisdicciones, como la Unión Europea, y en otras no como es el caso de EEUU. En la mayoría de reglamentos y guías indican que la función del sacrificio de urgencia es evitar el sufrimiento indebido o adicional del animal y salvar la carne (Koralesky y Fraser, 2018).

En algunos estudios se ha monitorizado las vacas que han llegado a los mataderos con sacrificio de urgencia en explotación y se ha encontrado que la mayoría padecían de lesiones locomotoras. Según Koralesky y Fraser (2018) en granjas lecheras de Italia se ha encontrado que los principales motivos por el cual se han realizado OFES son: accidentes, problemas metabólicos o digestivos, y distocias.

Según la legislación británica, a un animal se le puede aplicar el sacrificio en la granja si cumple estos requisitos (Koralesky y Fraser, 2018):

- Su condición física le imposibilita ser trasladado a matadero sin sufrimiento indebido.
- Si el transporte de éste supone un elevado riesgo de perjuicio al ser humano.

El empresario que realiza el sacrificio de urgencia debe confirmar que el matadero puede aceptar el cuerpo del animal y, además, que un veterinario autorizado por la autoridad competente ratifique que el animal es apto para el consumo humano, es decir, libre de signos de enfermedad (Koralesky y Fraser, 2018).

El veterinario se asegura de que el personal de la explotación es competente en el ámbito del aturdimiento y el sacrificio. También deberá comprobar que no se llevan a cabo tareas como atar las patas o pezuñas de los animales, utilizar corriente eléctrica para la inmovilización que no aturda o mate al animal, golpear o dar patadas (Gencat, 2017).

Para realizar el sacrificio los animales tienen que estar correctamente sujetos. Posteriormente se procede a realizar el aturdimiento mecánico, que es el más habitual. Existen 4 tipos: pistola con proyectil, pistola con clavija penetrante, pistola con clavija no penetrante y el golpe contundente. Debido a la idoneidad de la situación normalmente en España se utiliza la pistola con clavija penetrante. En el caso del bovino, el disparo se realiza en el punto de intersección entre dos líneas imaginarias que van desde el ángulo lateral del ojo hasta la oreja, siempre en

dirección hacia la cola (Gencat, 2017).

El sangrado se realiza en la explotación de forma higiénica, teniendo a su disposición dos cuchillos, uno causara una incisión en la piel y, el segundo, realizara una sección en los vasos sanguíneos principales del cuello (vena yugular y arterias carótidas), obteniendo así un desangrado rápido (Gencat, 2017).

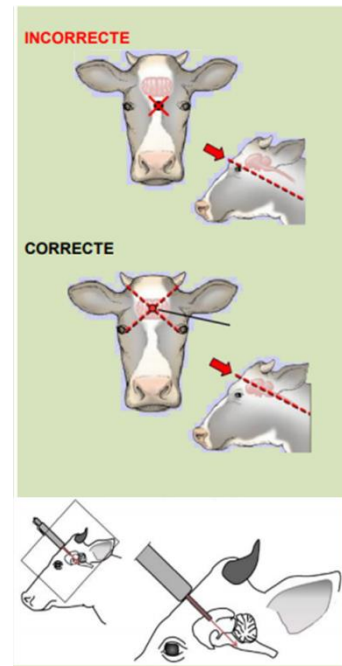


Figura 1. Puntos de referencia anatómica para la aplicación del aturdimiento (Gencat, 2017).

5.1.1. Transporte

Según el reglamento (UE) 1/2005, como punto de partida el operador económico informa al centro de su llegada con una antelación de 24 horas. El siguiente paso es cargar los animales en el vehículo para llevarlos a su destino. No obstante, habrá comentar aspectos generales del transporte para favorecer el bienestar animal. Antes de iniciar el viaje habrá que tener en cuenta la índole y duración del viaje, el diseño y mantenimiento del vehículo, la documentación necesaria para una adecuada trazabilidad, disponer de espacio suficiente, descanso, agua y alimentos necesarios y, control de enfermedades entre otros.

Durante los viajes largos debe realizarse paradas de descanso suficientemente largas para poder alimentar a los animales y ofrecerles el agua necesaria (Romero et al., 2012). Se aconseja no facilitar alimentos durante un breve periodo de tiempo antes de la carga. Durante el transporte no se administrarán medicamentos que modifiquen el comportamiento de los animales.

La duración del viaje ha de estar ligada a factores como: tipo de animal (joven, gestante, lactante,...), cansancio previsible de los animales, alimentación y agua necesarios, susceptibilidad a lesiones y enfermedades, volumen de carga, etc.

Los vehículos deben estar diseñados y contruidos de acuerdo a cada especie que va a ser transportada. Se dispondrá de estructuras que ofrezcan protección contra las condiciones meteorológicas adversas.

Para reducir la probabilidad de propagación de enfermedades durante el transporte, el diseño del vehículo permitirá limpiarlo y desinfectarlo a fondo e impedir toda fuga de excrementos y orina durante el viaje. Además, los excrementos y orina de los animales instalados en los niveles superiores no deberán filtrarse a los niveles inferiores y contaminar a otros animales, alimentos o agua.

El medio de transporte estará dotado de una ventilación adecuada que será regulable dependiendo de las variaciones climatológicas y las necesidades del animal (OIE, 2019).

El espacio requerido del vehículo estará en función de las necesidades del animal, que en el caso de los bóvidos será el tumbarse. Los animales que necesitan tumbarse suelen permanecer de pie la primera vez que se les carga o cuando el vehículo se mueve mucho o frena repentinamente. Cuando se tumben deberán tener suficiente espacio para adoptar una posición normal, evitando que unos estén encima de los otros, y que favorezca la termorregulación.

Dada la alta probabilidad de contagio entre animales durante el transporte, será aconsejable introducir grupos de la misma procedencia, vacunar contra enfermedades a las que pueden verse expuestos en el lugar de destino y contar con la supervisión de un veterinario para la administración de fármacos (Reglamento (UE) 1/2005; OIE, 2019).

5.2. En matadero

Ante todo sería bueno empezar a hablar sobre cómo funciona la empresa donde ha tenido lugar nuestro experimento, dado que es interesante conocer los procesos que sufre una canal, en este caso de bovino, una vez llega el animal al matadero.

Según el reglamento (UE) 1099/2009, todos los mataderos están obligados a disponer de un plan específico sobre bienestar animal, en el cual su objetivo es mantener un buen nivel de bienestar en todas las etapas de manipulación de los animales hasta que éstos sean objeto de matanza. Dicho plan debe contener un procedimiento estándar de actuación para cada etapa de la manipulación, con el fin de garantizar que no se compromete el bienestar animal en función de los debidos indicadores; deberá incluir, asimismo, acciones correctoras para casos de riesgo específicos, como cortes de suministro eléctrico u otras circunstancias que pudieran ser perjudiciales para el bienestar animal (OIE, 2019).

5.2.1. Estabulación

Tras la descarga de animales, los terneros permanecen en los corrales a la espera de que un veterinario oficial realice la inspección ante-mortem para iniciar su sacrificio con destino a consumo humano. Las zonas de estabulación deben estar diseñadas y construidas de modo que contengan una densidad de animales en relación con el volumen de procesamiento de matadero y que no interfiera en el bienestar de los mismos. Para que las operaciones se lleven a cabo de la forma más tranquila y eficaz posible, evitando el perjurio y el estrés innecesario de los animales, los corrales deben proporcionar a los animales una movilidad que permita desplazarse en la dirección requerida, según las características de comportamiento y sin penetración indebida en su zona de escape. Además, los suelos dispondrán de un buen sistema de desagüe, ser antideslizantes y no causar perjurio a las pezuñas. Cuando sea pertinente se revestirán de un material aislante o con una cama adecuada. Las rejillas del desagüe se situarán a los lados de los compartimentos o corredores y nunca en la superficie donde circulan los animales (OIE, 2019).

El veterinario oficial debe realizar una serie de actuaciones antes de dictaminar que el animal es apto para el consumo humano:

- Control documental e identificación adjunto en la ICA (Información sobre la Cadena Alimentaria).
- Valoración de la aptitud para el transporte.

5.2.2. Faenado

Así pues, tras haber quedado inconsciente es colgado patas arriba y, a continuación, se le aplica el degollado, ya que este proceso en posición vertical favorece el desangrado de una forma más rápida e eficiente. Cabe destacar que si se trata de una vaca en la cual el cliente ha pedido el sacrificio Halal, el proceso cambia ligeramente, pues el animal es degollado en posición horizontal mirando hacia la Meca y sin un aturdimiento previo (por regla general) contando con la ayuda de una máquina incluida en la manga que facilita la incisión levantando el cuello del bóvido.

Durante el sangrado, se realiza la separación del recto del resto del cuerpo mediante el uso de una cortadora de recto y posteriormente, se cubre el mismo con una bolsa de plástico para evitar que el contenido intestinal contamine la futura canal.

En el siguiente paso se cortan las zonas caudales de las extremidades con unas pinzas cortadoras de gran tamaño y se procede al desollamiento del animal. Posteriormente, se realiza una incisión desde abdomen hasta tórax (incluido) para una mayor exposición de las vísceras. Todo el tracto digestivo pasa por un circuito donde es expulsado hacia otra sala y la autoridad competente inspecciona el resto de órganos que son: hígado, riñón, pulmón y

corazón, así como la cabeza. En esta etapa nos podemos encontrar patologías como abscesos hepáticos que suelen aparecer en el parénquima y que si se encuentra de forma focalizada se puede extraer y considerarla como apto. Otra lesión muy típica es la neumonía, en la cual el pulmón adquiere una consistencia más esponjosa e hinchada junto con zonas de consolidación. En contadas ocasiones podemos ver que el pericardio deja de ser brillante y se nota engrosado y cubierto por un líquido fibrinótico dando lugar a una pericarditis.

En una sala contigua a la sala de faenado tiene lugar la inspección de cabezas donde se observa la lengua, músculos maseteros y linfonodos (submaxilares, parotídeos y retrofaríngeos). Además, cabe destacar la relevancia de esta parte del animal, pues alberga el llamado material específico de riesgo ganado vacuno (MER), el cual es responsable de transmitir la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) (OIE, 2019). El MER está constituido por:

- Cerebro
- Medula espinal
- Ojos
- Amígdalas
- Intestinos

Simultáneamente, un trabajador se encarga de realizar el corte transversal de la canal dando lugar a hemicanales. Al final de la cadena de procesado otro empleado se encarga de identificar las canales introduciendo una serie de dígitos que conforman el número de canal sacrificada en el matadero. Además, con el permiso de un veterinario oficial, se implanta el sello de seguridad alimentaria, el cual garantiza que dicho producto no supone un perjuicio para la salud pública. Y se finaliza esta etapa introduciendo las canales en una cámara de refrigeración a la espera de la recogida del camión.

6. Material y métodos

6.1. Diseño experimental

La población de nuestro estudio está constituida por terneros procedentes de las explotaciones de los alrededores de Lleida destinados a ser sacrificados. Dentro de esta población se han formado dos grupos, el grupo que está integrado por animales sacrificados en el matadero Indelesa y faenados en el mismo (denominado como el grupo control GC), del cual se abastece de las explotaciones de los alrededores de Lleida, y el grupo de terneros que han sido sacrificados en explotación de modo urgente y faenados en matadero (denominado grupo de urgencia GU).

El experimento va tomar muestras de 15 animales procedentes de matanza en establecimiento y 24 animales sacrificados en explotación. Con el fin de descartar posibles diferencias por día de faenado se tomaron muestras control todos los días que se tomaba muestra de urgencia.

Durante 15 días distribuidos en un periodo de dos meses (desde 21/01 hasta 29/03) se tomarán muestras en matadero.

Para cada muestra obtenida se realizará dos métodos para el recuento microbiano. Se investigará aerobios mesófilos y psicrótrofos.

Cuando finalice el faenado, justo antes de entrar en cámara se recogerán valores de pH y temperatura.

6.2. Metodología del análisis microbiológico

Se contactó de forma presencial con la dirección del matadero Indelesa para explicar el interés del estudio y solicitar acceso al investigador para llevar a cabo la recogida de muestras. Asimismo, se contactó con los servicios científico-técnicos de Agrotecnio de la UdL para el procesamiento y posterior análisis de las muestras.

6.2.1. Obtención de muestras

Se toman los valores de pH y Tª de la canal (en 3 puntos distintos de la zona entre la cuarta y quinta costilla para luego realizar una media de los dos parámetros) justo después de haber finalizado el faenado y antes de entrar en la cámara de refrigeración mediante el uso de un medidor de pH portátil. Posteriormente en la cámara, se obtienen ≥ 50 g de magro de los pilares del diafragma de la canal con un cuchillo esterilizado. Se colocan las muestras en una nevera portátil para frenar el crecimiento microbiano, y se trasladan al laboratorio científico-técnico de Agrotecnio de la UdL, el cual ha facilitado el material microbiológico.

Antes de partir del matadero se pide información sobre los registros de cada animal muestreado (tanto de urgencia como de sacrificio convencional). Se recogen los siguientes datos:

- Fecha de nacimiento
- Fecha y hora de sacrificio
- Hora de llegada al matadero
- Hora de faenado

6.2.2. Análisis de laboratorio

En el laboratorio de microbiología de los servicios científico-técnicos de la UdL se prepara el material y la zona de trabajo. El medio PCA (“agar para el recuento en placa”, medio idóneo para el desarrollo levaduras y mohos en condiciones de aerobiosis y mesofilia) poder contar las colonias formadas en la placa), se deja atemperar en baño maría para que alcance y se estabilice a 48 °C.

Se lava con alcohol la superficie de trabajo de la cabina de flujo laminar para desinfectarla. Luego dejamos encendido el sistema de flujo de la cabina, así como la luz UV, durante 15 minutos, ya que es el tiempo necesario para esterilizar el área. En este tiempo muerto se aprovecha para identificar las placas y los tubos para realizar las diluciones con el nombre de la muestra, tipo de microorganismo, número de dilución y tiempo de análisis.

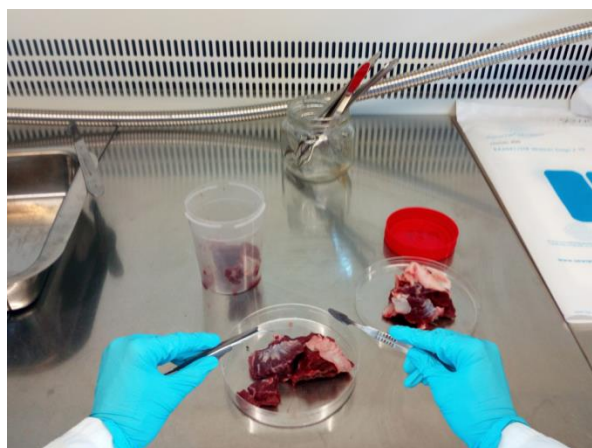


Figura 2. Sección de las muestras para formar alícuotas ≥ 10 gr de carne.

Se divide la muestra en 5 alícuotas bajo las condiciones de esterilidad de la cabina, de las cuales cada una se pesa y se introduce ≥ 10 g en una bolsa Stomacher® estéril, la cual se identifica correctamente con el nombre de la muestra, el tiempo en el que se analiza y la cantidad pesada.

Se toma una muestra para el análisis a $T^0 = 0$ y el resto se guarda en refrigeración para los posteriores análisis ($T^0 = 4, 8$ y 15 días).

Se añaden 90 mL de peptona salina estéril a la bolsa y se introduce en el homogeneizador Stomacher®. Extraer 1 mL de la solución madre y realizar las distintas diluciones en los tubos de ensayo:

- T_0 y 4: -2, -3 y -4
- T_8 : -4, -5, -6 y -7

- T15: -7, -8 y -9

En función del tipo de microorganismo que se va a analizar se implementará uno de los dos métodos siguientes.

6.2.2.1. Método de inclusión para recuento de los MAM

Primero de todo se inocula 1 ml de la solución madre en una placa Petri estéril y, a continuación, se repite la operación con las siguientes diluciones decimales.

Se vierte en cada placa unos 15 ml de PCA a $46\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se mezcla el inóculo con el medio y se deja en reposo hasta conseguir una solidificación.

Finalmente, se incuban las placas en posición invertida a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas.

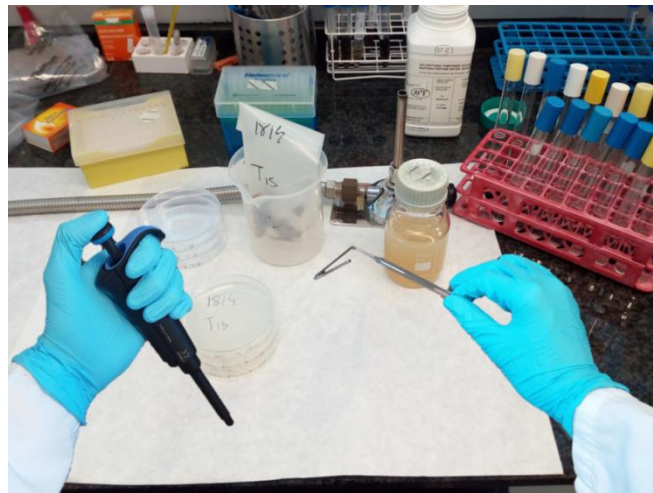


Figura 3. Inoculación y siembra de las muestras en placas.

6.2.2.2. Método de superficie para recuento de los psicrotrofos

Se inocula 0,1 ml de la solución madre en una placa Petri estéril con medio PCA y, posteriormente, se repite la operación con las siguientes diluciones decimales.

Se extiende el inóculo por toda la placa mediante asa de Drigalsky. Se tapa y se deja absorber durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Se incuba en posición invertida a $6,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 días.

6.2.2.3. Recuento microbiológico

Una vez finalizado los respectivos periodos de incubación de cada microorganismo se extraen las placas de cada incubadora y se procede al recuento microbiológico de cada placa.

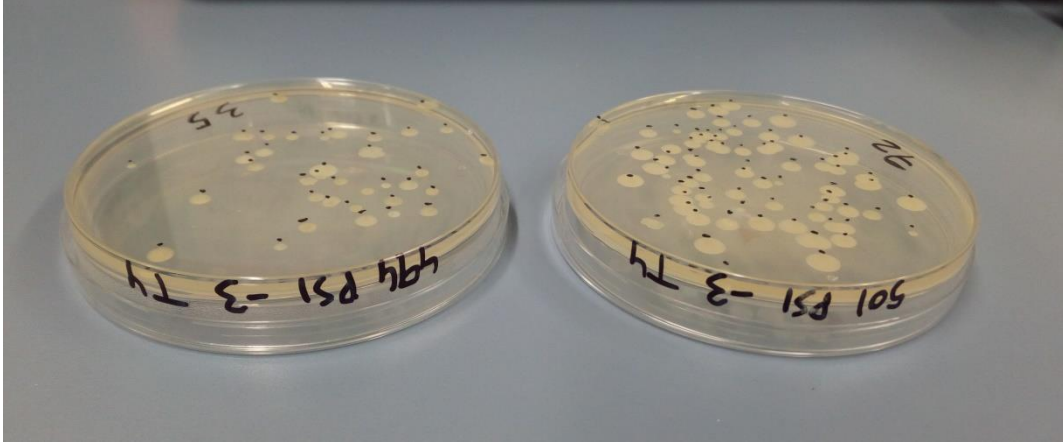


Figura 4. Recuento de colonias en placas de psicrótrofos tras la incubación.

6.2.3. Recogida de datos

Para reflejar la información obtenida en el análisis de muestras se utilizó una hoja de cálculo Excel que se iba cumplimentando a medida que se obtenía información de los diferentes periodos de análisis.

Esta hoja de cálculo recoge todas las variables de cada una de las muestras que forma parte del estudio (ver anexo 1).

6.3. Estadística

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico JMP.

6.3.1. Estudio de normalidad

Para poder comparar el tipo de sacrificio con el resto de variables del estudio, primero hay que realizar un estudio que permita mostrar una homogeneidad dentro de cada grupo (GC y GU). Se comprobó con un test Kolmogorov-Smirnov que la distribución fue normal con un p-valor de 0,392.

6.3.2. Análisis univariado

Las variables cualitativas (tipo de sacrificio) se calculan mediante el porcentaje y su intervalo de confianza (IC) del 95%. Se representarán mediante diagramas de barras y sectores.

Las variables cuantitativas (edad, pH, Tª,...) se estudiarán con la media y su desviación estándar (DE) y se representarán mediante histogramas.

6.3.3. Análisis bivariado

Se estudiará la relación de la variable dependiente (crecimiento microbiano) con el resto de variables cualitativas independientes (tipo de sacrificio) mediante la prueba de Chi-cuadrado y con las variables cuantitativas (pH, Tª,...) con la T-Student. El grado de significación que se aceptará será $\leq 0,05$.

6.4. Variables a estudiar

6.4.1. Variables independientes

Edad: Tiempo transcurrido desde el primer día de vida hasta el día de sacrificio. Variable cuantitativa. Se medirá en meses.

Tipo de sacrificio: Matanza de animales, especialmente para el consumo. Variable cualitativa con dos categorías: 1. En explotación 2. En matadero.

pH: Índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución. Tiene una escala de 0 a 14, correspondiendo el 7 al pH neutro, <7 ácido y >7 básico. Se medirá el pH con un

medidor de pH en 3 puntos distintos de la misma canal obteniendo así un valor medio de pH. Variable cuantitativa.

Tª: Grado o nivel térmico de un cuerpo. Se medirá este parámetro con el mismo medidor de pH que integra la función de termómetro, calibrado con respecto a la escala Celsius (°C), en tres puntos distintos de la misma canal obteniendo así un valor medio de temperatura. Variable cuantitativa.

Tiempo de transporte: Periodo transcurrido desde el sacrificio del animal hasta su llegada a establecimiento. Únicamente se recogerá en las muestras sacrificadas en explotación a partir del registro de la hora de sacrificio y de la hora de llegada al matadero. Variable cuantitativa.

Tiempo de faenado: Periodo transcurrido desde el sacrificio del animal hasta la finalización del faenado de la canal (justo antes de la entrada en cámara de refrigeración). Se recogerá a partir del registro de la hora de sacrificio y de la hora de faenado. Variable cuantitativa.

6.4.2. Variables dependientes

Crecimiento microbiano: Se recogerá las ufc de microorganismos aerobios mesófilos (MAM) y la de microorganismos psicrótrofos (PSI), que se medirán tras el periodo de incubación pertinente de cada microorganismo (T0 MAM i T0 PSI) y a los 4,8 y 15 días. Variable cuantitativa.

Vida útil: Índice que expresa el tiempo que un producto es apto para el consumo humano. Se tendrá como referencia valores $\leq 6,69 \log \text{ ufc/g}$. variable cualitativa con dos categorías: 1. Apto para el consumo 2. No apto para el consumo.

6.5. Cronograma

Apartados	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	
Planteamiento proyecto								
Revisión bibliográfica								
Recogida muestras								
Análisis laboratorio								
Análisis estadística								
Redacción								
Presentación								

7. Resultados y discusión

7.1. Análisis univariante

La media de pH de todas las muestras de carne del estudio es de 6,63 ($\pm 0,34$). Obteniendo un valor medio de pH del grupo control de 6,85 ($\pm 0,25$), mientras que el del grupo de sacrificio en explotación representa 6,5 ($\pm 0,33$) (ver anexo 3).

La media de T^a de todo el estudio es de 31,3 °C ($\pm 3,73$). La media grupal de este parámetro en el sacrificio en matadero es 32,8 °C ($\pm 4,43$), por otro lado, la media del grupo sacrificio en explotación es 30,4 °C ($\pm 2,94$) (ver anexo 2).

A pesar de que la edad media del estudio corresponde a 11,6 meses de edad ($\pm 2,70$), se sacrificó un animal de 173 meses de edad, siendo el más longevo con diferencia respecto el resto de población. Por otro lado, los animales procedentes del grupo GC tienen una edad media de 12,1 meses ($\pm 1,83$), mientras que el grupo GU tienen 11,3 meses ($\pm 3,11$). Como podemos observar hay una mayor variabilidad de edad en el grupo GU, esto puede explicarse porque cuando traen animales al matadero para sacrificarlos éstos suelen venir en grupos más homogéneos y no se mezclan tanto las edades en el transporte.

Dentro del estudio el tamaño de muestra es de 39 terneros, de los cuales el 38,4% representa los animales sacrificados en matadero y el 61,5% corresponde a los que se han sacrificado en explotación.

7.2. Análisis bivariante

Según los resultados obtenidos por el modelo estadístico podemos observar diferencias significativas de T^a de la canal tras el faenado entre los dos grupos (ver anexo 2). Sin embargo, la probabilidad obtenida es tan próxima a 0,05 (p-valor = 0,0476) que nos lleva a considerar que las diferencias de T^a no son lo suficientemente grandes como para establecer una relación directa entre este parámetro y el tipo de sacrificio. Aun así estas diferencias se pueden explicar porque los animales pertenecientes al grupo GU llevan más tiempo muertos que el grupo GC, por ende, al agotarse las reservas energéticas el músculo entra en *rigor mortis*, el riego sanguíneo es inexistente y, todo esto causa la caída de la producción de calor conforme avanzan las horas (Kim et al, 2014).

Como hemos mencionado anteriormente, el estudio se llevó a cabo durante una época invernal (enero, febrero y marzo) por lo que la temperatura de los animales sacrificados en explotación no difiere tanto de los sacrificados en matadero, ya que el transporte estuvo bajo condiciones de temperatura ambiental que oscilaban entre 13 y 15 °C, las cuales eran muy similares a las de las condiciones de matadero. No obstante, en el caso de que este estudio se hubiese implementado en una época estival es muy probable que en los terneros sacrificados en explotación habrían sufrido un aumento de calor debido al ambiente, con lo que ocasionaría un aumento de la temperatura del músculo antes de implantarse el rigor mortis, y

esto ocasionaría un descenso más rápido de pH, dando como resultado una condición de desnaturalización de la proteína, que entre otros sucesos, provocaría el desarrollo de carnes PSE (Kim et al, 2014).

De acuerdo a los resultados del modelo estadístico vemos claramente como existen diferencias significativas de pH entre los dos tipos de sacrificio con un p-valor de 0,001 (ver anexo 3), esto está relacionado con el tiempo transcurrido desde que se sacrifica el animal hasta la llegada a matadero. El tiempo medio de este intervalo para animales GU es de 115 minutos (± 25), mientras que el tiempo transcurrido desde que se sacrifica hasta que se faena la canal para el grupo GC es de 20 minutos. Según la normativa, el tiempo transcurrido desde el sacrificio hasta el inicio de la preparación de la canal no puede ser superior a 3 horas (Gencat, 2017), por lo tanto, el tiempo de faenado de los animales sacrificados en explotación está dentro de la normalidad. Aun así, el motivo por el cual se observa diferencias de pH podría ser por la instauración del *rigor mortis*. Tras unas horas *post-mortem* el cuerpo del animal experimenta una serie de cambios, entre ellos está el *rigor mortis*. Durante esta fase el cuerpo va sufriendo, de forma progresiva, una contracción muscular debido a la unión de la actina y miosina, por ende, obtenemos como resultado una rigidez cadavérica. Uno de los efectos que se obtienen durante la implantación de este fenómeno es la formación de ácido láctico, el cual va a ocasionar la acidificación del medio, es decir, de la carne. Una vez explicado esto, es explicable que el grupo de sacrificio en explotación (U) muestre valores de pH más bajos que su contraparte, pues la instauración del rigor mortis ha sido más temprana.

Según los resultados obtenidos podemos afirmar que no existen diferencias significativas de crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos (MAM) a días 0, 4, 8 y 15 entre los dos tipos de sacrificio (ver anexo 4). Ergo podemos concluir que el sacrificio de urgencia o fuera de explotación, según las condiciones estudiadas de Tº de transporte de 115 minutos (± 25), Tª media de 13,5 °C (enero), 14,5 °C (febrero) y 16,5 °C (marzo), tipo de sacrificio con aturdimiento con perno cautivo penetrante, no afecta a la vida útil de la canal.

Del mismo modo, podemos observar que no hay diferencias significativas de crecimiento de psicrótrofos (PSI) a días 0, 4, 8 y 15 entre los grupos GC y GU (ver anexo 5). De manera que podemos afirmar que el sacrificio de urgencia o fuera de explotación, en las condiciones previamente mencionadas, no afecta a la vida útil de la canal.

A continuación, se ha representado los resultados de las tablas respecto al crecimiento microbiano en los diferentes tiempos en una gráfica (Figura 5). Como podemos observar hay prácticamente un solapamiento completo de las líneas de regresión de los dos grupos de sacrificio, es decir, como ya se ha explicado previamente, no existen diferencias suficientemente grandes como para determinar que el tipo de sacrificio afecta al crecimiento microbiano de la carne en ningún punto del periodo.

Para poder determinar la vida útil de cada tipo de muestra se ha insertado un límite establecido por el reglamento 853/2004 que representa 6,69 unidades de log ufc/g como

referencia, ya que todo lo que esté por encima de este valor supondrá un alimento con la vida útil comprometida. Dicho esto, con la ayuda de una ecuación de regresión hemos determinado que la vida útil media del grupo control es de 8,5 días, mientras que la del sacrificio en explotación es de 8,3 días.

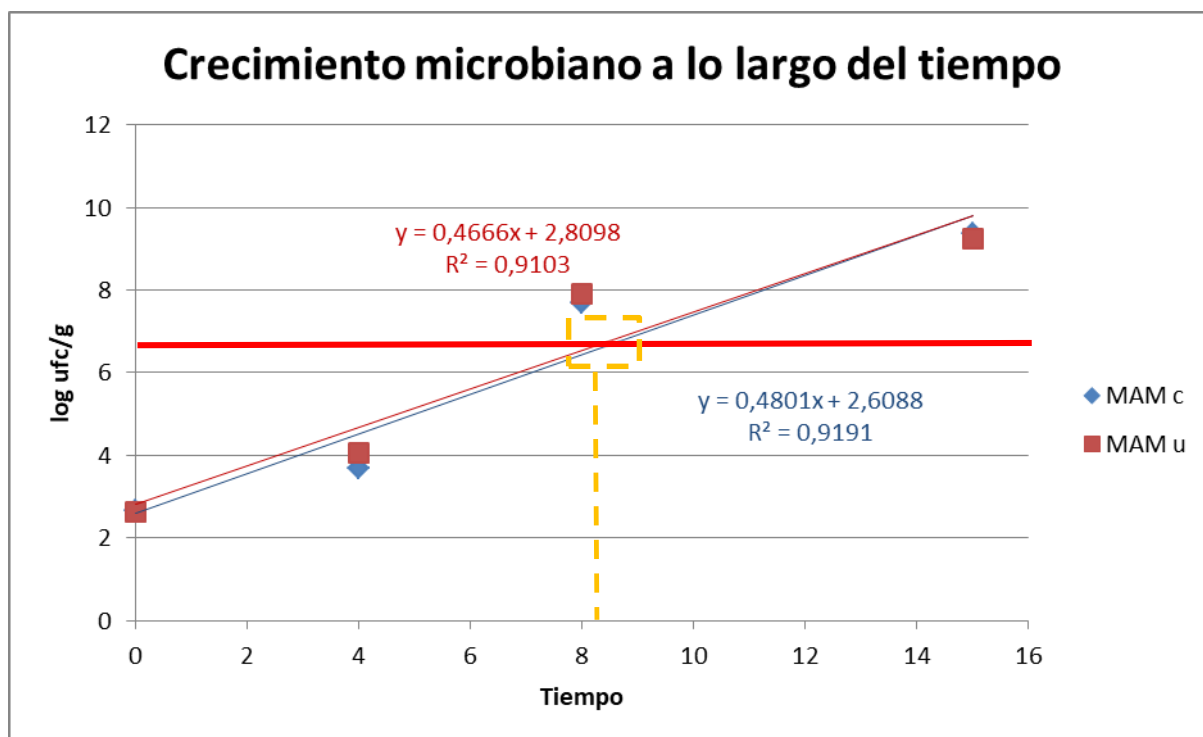


Figura 5. Crecimiento microbiano de MAM expresado en log ufc/g en función del tiempo expresado en días.

También se realizó otra representación gráfica del crecimiento microbiano en función del tiempo (Figura 6), pero con una herramienta predictiva de microbiología facilitada por ComBase®, que permite ver si existen diferencias en cuanto a la dinámica de la curva. Obviamente se mostraron diferencias porque este modelo predictivo es totalmente empírico, basado en una serie de ensayos científicos, de los cuales solo se puede acceder a una determinada T^a , pH, microorganismos, etc. También se optó por introducir en un mismo sistema los principales microorganismos aerobios mesófilos para hacer una simulación lo mas cerca de la realidad posible. Manteniendo el límite máximo de vida útil podemos establecer que en estas condiciones la vida útil de la carne es de 6,3 días. Estas diferencias entre la vida útil de nuestro estudio y la de la herramienta ComBase® se pueden explicar ya que en nuestro experimento se trabajó con T^a de refrigeración, provocando un aumento de la vida útil, mientras que la herramienta predictiva solo pudo ofrecer resultados a $T^a = 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ya que en los artículos en que se basa solo trabajaron con esta temperatura.

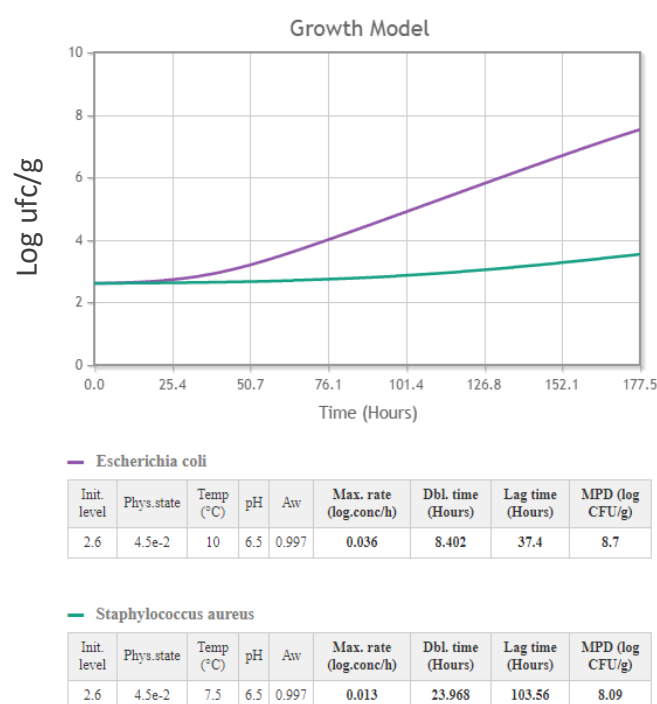


Figura 6. Crecimiento microbiano de MAM expresado en log ufc/g en función del tiempo expresado en horas. www.combase.cc

Se ha realizado el mismo caso que el anterior con la pequeña diferencia que aquí se representaba el crecimiento microbiano de los psicrótrofos (Figura 7). Como podemos observar tampoco se han visto diferencias significativas en ningún de los cuatro tiempos estudiados, con lo que podemos llegar a la misma conclusión, que el tipo de sacrificio no afecta a la vida útil de la carne. No obstante, mediante con las ecuaciones de regresión de cada grupo hemos establecido que la vida útil media de los terneros sacrificados en matadero es de 9,21 días, y con un resultado virtual idéntico los animales sacrificados en explotación tienen 9,08 días de vida útil como valor promedio.

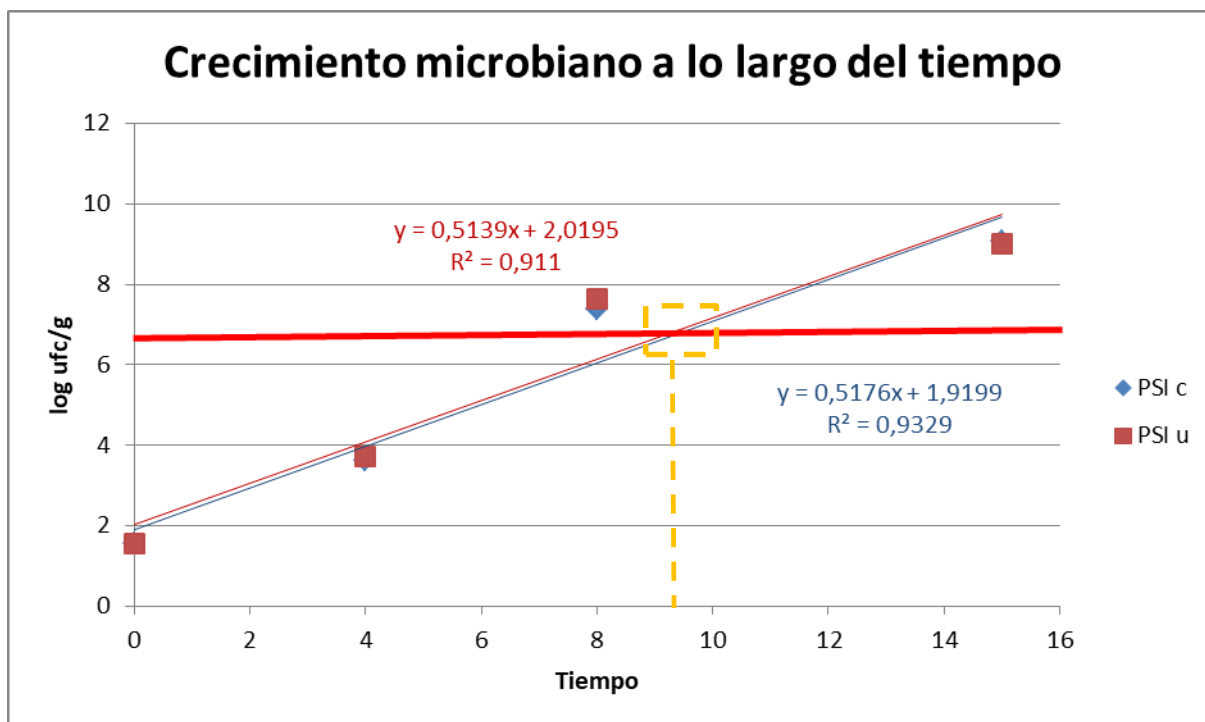


Figura 7. Crecimiento microbiano de PSI expresado en log ufc/g en función del tiempo expresado en días.

En este modelo predictivo se ha introducido a *Pseudomonas* spp. y a *Listeria monocytogenes*, los psicrótrofos más habituales en la superficie de las canales (Figura 8). Teniendo como referencia el mismo valor límite máximo de vida útil podemos establecer que en estas condiciones la vida útil de la carne es de 4,6 días. Como podemos comprobar hay grandes diferencias respecto a la vida útil de nuestro estudio. Posiblemente esto sea debido a que la herramienta solo dispone de limitados psicrótrofos, con lo que el limitante de esta gráfica, *Pseudomonas* spp. hace que la higiene del producto se comprometa entre el día 4 o 5. No obstante, si analizamos la microbiota total real de una muestra veremos que hay más microorganismos y que, probablemente, alguno de ellos limitaría el crecimiento de *Pseudomonas* spp., provocando un aumento de la vida útil de la muestra.

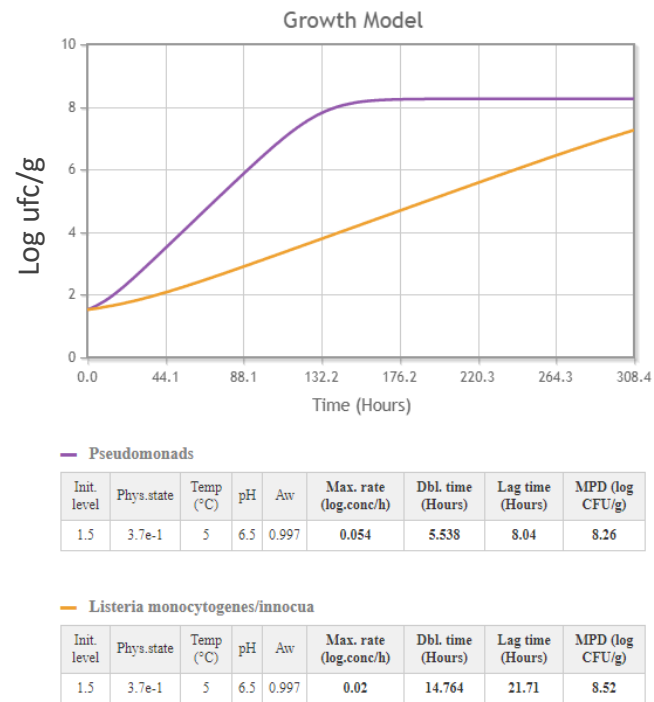


Figura 8. Crecimiento microbiano de PSI expresado en log ufc/g en función del tiempo expresado en horas. www.combase.cc

8. Conclusiones

La conclusión principal de este estudio es que no existen diferencias significativas entre la carne de bovinos sacrificados en explotación y los sacrificados en matadero en las siguientes condiciones:

- Tiempo medio de transporte del animal sacrificado de 115 minutos (± 25)
- Sacrificado en granja con aturdimiento de perno cautivo
- Temperatura de transporte en invierno: enero (12-14 °C), febrero (13-15 °C) y marzo (15-17 °C)

Otras conclusiones que se pueden obtener de este estudio es que las canales sacrificadas en explotación tienen una vida útil, según las condiciones anteriores, de 8,3 días y de 8,5 días para las canales sacrificadas convencionalmente en matadero.

Son necesarios más estudios teniendo en cuenta otras variables y otros parámetros a controlar como los microorganismos, el tipo de animal, temperatura y tiempo de transporte.

Posible continuidad de estos estudios:

- Establecer tiempos de transporte superiores a los establecidos en la legislación, o bien, comparar si los que hemos establecido en el estudio son diferentes a los de la legislación.
- Realizar este estudio en épocas estivales para observar si las temperaturas elevadas del medio ambiente influyen en la Tª de las canales durante el tiempo de transporte.
- Replicar este estudio en otras especies.
- Determinar de forma minuciosa los microorganismos aerobios mesófilos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Brochothrix* spp.) y los psicrótrofos (*Pseudomonas* spp., *Listeria monocytogenes*)

Agradecimientos

En primer lugar, debo agradecer a mi tutor Francisco Molino por haberme enseñado cómo funciona el mundo de la sanidad pública y también por ayudarme a darle forma al trabajo. También le doy las gracias a M^a Teresa Milà (Protecció de la Salut Pública de la Generalitat) por velar por el buen funcionamiento del estudio y por ofrecer su ayuda cuando lo he necesitado.

Cabe destacar que si no fuera por Antonio Ramos (del Servicio Científico Técnico "Calidad Microbiológica en el Sector Agroalimentario" de la UdL) y Robert Garrofé (Servicios Científico-Técnicos de Agrotecnio) no hubiese podido ejecutar la parte experimental con respecto al laboratorio y, sobre todo, agradecer la paciencia que tuvo Robert para conseguir que yo llevara a cabo todas las funciones necesarias para el análisis de laboratorio de forma autónoma.

Para finalizar quisiera agradecer al matadero Indelesa haberme permitido realizar la parte experimental que concierne a la toma de muestras de sus canales y, al sector de veterinarios, por haber facilitado los datos necesarios para el estudio.

Bibliografía

Doulgeraki, A; Ercolini, D; Villani, F; Nychas, G (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology* 157, 130-141.

Gencat (2017). Http: www.gencat.cat. Consultado en mayo de 2019.

González, M; Mesa, C; Quintero, O (2014). Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *VITAE, revista de la facultad de química farmacéutica*, 201-210.

IPSOS (2018). Http: www.ipsos.com. Consultado en mayo de 2019.

Kim, Y; Warner, R; Rosenvold, K (2014). Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality: a review. *Animal Production Science* 54, 375-395.

Koralesky, K; Fraser, D (2018). Use of on farm emergency slaughter for dairy cows in British Columbia. *J. Dairy Sci* 101, 6413-6418.

Mareko, M (2005). Effects of Pre-slaughter Stress on Carcass/meat Quality: Implications for Botswana. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 4, 761-767.

OIE (2019). Http: www.oie.int. Consultado en mayo de 2019.

Reglamento (CE) Nº 1/2005 del consejo de 22 de diciembre de 2004 relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE y 93/119/CE y el Reglamento (CE) no 1255/97.

Reglamento (CE) Nº 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

Reglamento (CE) Nº 853/2004 del parlamento europeo y del consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

Romero, M; Sánchez, J (2012). Bienestar animal durante el transporte y su relación con la calidad de la carne bovina. *Rev. MVZ Córdoba* 17, 2936-2944.

Sutherland, M; Worth, G; Stuart, A; Dobbie, P; Clerens, S (2016). Effect of pre-slaughter handling, exercise and the presence of a dog on lamb welfare and meat quality. *Animal*, 1360-1367.

Anexos

Anexo 1: Hoja de Excel para la recogida de datos

[illegible]

Anexo 2: Respuesta de la Tª media en función del tipo de sacrificio

Respuesta Tª media

Resumen de efectos

Resumen del ajuste

R cuadrado

0,101937

R cuadrado ajustado

0,077665

Raíz del error cuadrático medio

3,583619

Media de respuesta

31,39915

Observaciones (o suma de pesos)

39

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	53,93505	53,9350	4,1998
Error	37	475,16604	12,8423	Prob > F
C. Total	38	529,10108		0,0476*

Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	31,678056	0,589757	53,71	<,0001*
Grupo[C]	1,2086111	0,589757	2,05	0,0476*

Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	53,935046	4,1998	0,0476*

Detalles de los efectos

Grupo

Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	32,886667	0,92528645	32,8867
U	30,469444	0,73150317	30,4694

Anexo 3: Respuesta del pH medio en función del tipo de sacrificio

Respuesta pH media

Resumen de efectos

Resumen del ajuste

R cuadrado	0,256901
R cuadrado ajustado	0,236817
Raíz del error cuadrático medio	0,303811
Media de respuesta	6,637692
Observaciones (o suma de pesos)	39

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	1,1806668	1,18067	12,7915
Error	37	3,4151366	0,09230	Prob > F
C. Total	38	4,5958034		0,0010*

Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	6,6789583	0,049998	133,58	<,0001*
Grupo[C]	0,1788194	0,049998	3,58	0,0010*

Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	1,1806668	12,7915	0,0010*

Detalles de los efectos

Grupo

Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	6,8577778	0,07844361	6,85778
U	6,5001389	0,06201512	6,50014

Anexo 4: Respuesta del crecimiento microbiano de MAM a días 0, 4, 8 y 15 en función del tipo de sacrificio

▼ Respuesta T0 MAM

► Resumen de efectos

► Resumen del ajuste

R cuadrado

0,000315

R cuadrado ajustado

-0,0267

Raíz del error cuadrático medio

8992,445

Media de respuesta

4244,103

Observaciones (o suma de pesos)

39

► Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	941787,756	941787,76	0,0116
Error	37	2991970156	80864058	Prob > F
C. Total	38	2992911944		0,9146

► Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	4280,9583	1479,888	2,89	0,0064*
Grupo[C]	159,70833	1479,888	0,11	0,9146

► Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	941787,76	0,0116	0,9146

► Detalles de los efectos

▼ Grupo

► Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	4440,6667	2321,8392	4440,67
U	4121,2500	1835,5750	4121,25

▼ Respuesta T4 MAM

► Resumen de efectos

► Resumen del ajuste

R cuadrado

0,014381

R cuadrado ajustado

-0,01226

Raíz del error cuadrático medio

283248,6

Media de respuesta

89900,77

Observaciones (o suma de pesos)

39

► Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	4,3314e+10	4,331e+10	0,5399
Error	37	2,9685e+12	8,023e+10	Prob > F
C. Total	38	3,0118e+12		0,4671

► Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	81996,875	46614,26	1,76	0,0868
Grupo[C]	-34250,21	46614,26	-0,73	0,4671

► Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	4,3314e+10	0,5399	0,4671

► Detalles de los efectos

▼ Grupo

► Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	47746,67	73134,462	47747
U	116247,08	57817,869	116247

▼ Respuesta T8 MAM

► Resumen de efectos

► Resumen del ajuste

R cuadrado

0,006839

R cuadrado ajustado

-0,02

Raíz del error cuadrático medio

1,975e+9

Media de respuesta

7,064e+8

Observaciones (o suma de pesos)

39

► Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	9,9333e+17	9,933e+17	0,2548
Error	37	1,4426e+20	3,899e+18	Prob > F
C. Total	38	1,4526e+20		0,6167

► Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	668516125	3,25e+8	2,06	0,0468*
Grupo[C]	-1,64e+8	3,25e+8	-0,50	0,6167

► Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	9,9333e+17	0,2548	0,6167

► Detalles de los efectos

▼ Grupo

► Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	504496000	509834282	504496000
U	832536250	403059390	832536250

▼ Respuesta T15 MAM

► Resumen de efectos

► Resumen del ajuste

R cuadrado

0,02525

R cuadrado ajustado

-0,00109

Raíz del error cuadrático medio

1,88e+10

Media de respuesta

1,96e+10

Observaciones (o suma de pesos)

39

► Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	3,3964e+20	3,396e+20	0,9584
Error	37	1,3112e+22	3,544e+20	Prob > F
C. Total	38	1,3451e+22		0,3339

► Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	2,032e+10	3,098e+9	6,56	<,0001*
Grupo[C]	3,0329e+9	3,098e+9	0,98	0,3339

► Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	3,3964e+20	0,9584	0,3339

► Detalles de los efectos

▼ Grupo

► Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	2,3353e+10	4860505810	2,335e+10
U	1,7288e+10	3842567235	1,729e+10

Anexo 5: Respuesta del crecimiento microbiano de PSI a días 0, 4, 8 y 15 en función del tipo de sacrificio

Respuesta T0 PSI

Resumen de efectos

Resumen del ajuste

R cuadrado0,000027

R cuadrado ajustado-0,027

Raíz del error cuadrático medio928,674

Media de respuesta365,3846

Observaciones (o suma de pesos)39

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	863	863	0,0010
Error	37	31910107	862435	Prob > F
C. Total	38	31910969		0,9749

Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	366,5	152,832	2,40	0,0216*
Grupo[C]	4,8333333	152,832	0,03	0,9749

Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	862,56410	0,0010	0,9749

Detalles de los efectos

Grupo

Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	371,33333	239,78258	371,333
U	361,66667	189,56478	361,667

Respuesta T4 PSI

Resumen de efectos

Resumen del ajuste

R cuadrado0,004684

R cuadrado ajustado-0,02222

Raíz del error cuadrático medio86386,37

Media de respuesta49761,54

Observaciones (o suma de pesos)39

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	1299491308	1,2995e+9	0,1741
Error	37	2,7612e+11	7,4626e+9	Prob > F
C. Total	38	2,7742e+11		0,6789

Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	48392,5	14216,62	3,40	0,0016*
Grupo[C]	-5932,5	14216,62	-0,42	0,6789

Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	1299491308	0,1741	0,6789

Detalles de los efectos

Grupo

Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	42460,000	22304,864	42460,0
U	54325,000	17633,543	54325,0

Respuesta T8 PSI

Resumen de efectos

Resumen del ajuste

R cuadrado0,013902

R cuadrado ajustado-0,01275

Raíz del error cuadrático medio8,874e+8

Media de respuesta3,697e+8

Observaciones (o suma de pesos)39

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	4,1078e+17	4,108e+17	0,5216
Error	37	2,9138e+19	7,875e+17	Prob > F
C. Total	38	2,9549e+19		0,4747

Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	345333333	1,46e+8	2,36	0,0234*
Grupo[C]	-1,055e+8	1,46e+8	-0,72	0,4747

Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	4,1078e+17	0,5216	0,4747

Detalles de los efectos

Grupo

Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	239856667	229130763	239856667
U	450810000	181143774	450810000

Respuesta T15 PSI

Resumen de efectos

Resumen del ajuste

R cuadrado0,006158

R cuadrado ajustado-0,0207

Raíz del error cuadrático medio1,12e+10

Media de respuesta1,08e+10

Observaciones (o suma de pesos)39

Análisis de varianza

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F
Modelo	1	2,8623e+19	2,862e+19	0,2293
Error	37	4,6196e+21	1,249e+20	Prob > F
C. Total	38	4,6483e+21		0,6349

Estimaciones de los parámetros

Término	Estimación	Error estándar	Razón t	Prob > t
Constante del modelo	1,104e+10	1,839e+9	6,01	<0,0001*
Grupo[C]	880458333	1,839e+9	0,48	0,6349

Pruebas de los efectos

Fuente	N parámetros	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Razón F	Prob > F
Grupo	1	1	2,8623e+19	0,2293	0,6349

Detalles de los efectos

Grupo

Tabla de medias de mínimos cuadrados

Nivel	Media de mínimos cuadrados	Error estándar	Media
C	1,1925e+10	2885076462	1,192e+10
U	1,0164e+10	2280853211	1,016e+10